ESTRATTO
DAL
BOLLETTINO CLINICO-SCIENTIFICO
DELLA POLIAMBULANZA DI MILANO
Anno XV. — Fascicolo 11 — 1902

OSPEDALE MAGGIORE DI MILANO
(Divisione S. Ambrogio, S. Dionigi diretta dal dott. A. Ripamonti)

SUI GRANULI BASOFILI DELLE EMAZIE UMANE

Nota dei dottori U. FANO ed E. GEMELLI

PUBB. MEDICO-FARMACEUTICA
PIETRO TAMBORINI
Milano, Viale Monforte, N. 32.

OSPEDALE MAGGIORE DI MILANO
(Divisione S. Ambrogio, S. Dionigi diretta dal dott. A. Ripamonti)

SUI GRANULI BASOFILI DELLE EMAZIE UMANE

Nota dei dottori U. FANO ed E. GEMELLI

Nel mentre per lungo periodo di anni le osservazioni degli autori si rivolsero in modo speciale, nello studio delle alterazioni del sangue, ai leucociti ed alle piastrine, cosicchè fu, all'infuori di certe grossolane alterazioni (microciti, macrociti, ecc.), trascurato quasi completamente lo studio delle alterazioni morfologiche del globulo rosso, in un periodo molto recente una serie di studiosi diresse l'attenzione alle alterazioni del protoplasma del globulo rosso stesso.

Ad iniziare questi studi contribuirono i nuovi reperti sulla fine struttura del globulo rosso normale. Come è noto è questa una questione molto complessa e molto delicata e, a vero dire, ancora ben poco si sa più delle ormai antiche cognizioni di Brücke.

Nel 1895 Israel e Pappenheim (1) valendosi di speciali metodi di colorazione da poco tempo introdotti nella tecnica microscopica, notarono in alcuni globuli rossi del sangue di alcuni mammiferi ed in modo speciale degli organismi fetali la presenza di granulazioni più o meno abbondanti che assumevano con facilità ed elettivamente le sostanze coloranti.

Essi interpretarono queste granulazioni come un prodotto del disfacimento nucleare e in questo fatto essi tro-

varono un'appoggio alla loro ipotesi che il globulo rosso diviene anucleato per dissoluzione del nucleo stesso.

Questo fatto della presenza di granulazioni policromatofile fu studiato poscia da una serie di autori, i quali diressero le proprie ricerche allo scopo di determinarne il significato.

Giglio Tos (2) riuscì a studiare questi granuli nei globuli rossi di parecchi vertebrati e questo stesso fece il Maximow (3) che, a differenza degli autori succitati, crede che non siano già i granuli un prodotto di disfacimento del nucleo, ma che invece siano una proprietà morfologica propria dei globuli rossi giovani, cosicchè quando il nucleo fuoresce, resta un globulo rosso anucleato ricco di granuli policromatofili quale accade appunto di riscontrare nel sangue circolante.

Da questa ipotesi si allontana in modo notevole quella emessa da Giglio Tos, il qale invece crede che il nucleo secerna la sostanza cromatofila, anzi a questa diede un nome speciale, « sostanza emoglobigena » e con una serie di lavori affermò che esso avrebbe la funzione di produrre emoglobina.

Cesaris Demel e Foà (4) studiarono le sostanze colorabili nel globulo rosso con il neutral roth e verificarono che nei globuli rossi vi è una sostanza colorabile con speciali procedimenti tecnici con tale reagente e che fra i globuli rossi manifesta tale proprietà non il globulo anemico, ma sibbene il globulo rosso giovine, neoformato, il quale è entrato nel circolo dopo aver perduto il suo nucleo. — Cesaris (5) con ricerche ulteriori ha dimostrato che la sostanza cromatofila si può mettere in evidenza sebbene in numero limitato anche nei globuli rossi dei mammiferi adulti e che è la stessa la quale è colorata dal bleu di metile (Poggi ed altri) (6). Egli crede che tale sostanza sia posta anzichè endoglobularmente, alla periferia del globulo rosso.

Erano a questo punto gli studi sulla morfologia del globulo rosso, quando dagli ematologi tedeschi si discusse l'importanza da attribuirsi alle granulazioni, che si possono mettere in evidenza in alcune forme morbose, nelle quali era gravemente alterata la crasi sanguigna.

Dopochè Askanazy e Lazarus nel sangue di anemici e Plehn nei corpuscoli rossi del sangue di ammalati di malaria tropicale ebbero trovate alcune granulazioni che si coloravano come il nucleo, tali granulazioni furono studiate anche in altre forme morbose. Da queste osservazioni prese le mosse Grawitz. Egli trovò i granuli osservati da Plehn in un individuo affetto da terzana, e più tardi li dimostrò anche in casi di cancro dello stomaco e dell'intestino, nell'anemia di Biermer, nell' avvelenamento per piombo, nella leucemia, nelle infezioni settiche, mentre ha avuto un reperto negativo nella clorosi, nelle nefrite, nella cirrosi epatica, nella tubercolosi ed in altre parecchie forme.

Questa alterazione dei corpuscoli rossi secondo Grawitz sarebbe dovuta principalmente ad un veleno circolante; ma, mentre egli emette questa ipotesi, nota che, per esempio, non si trovano nella tubercolosi e perciò si potrebbe avere un elemento diagnostico utile fra carcinoma e tubercolosi. Egli poi ha potuto ottenerle sperimentalmente sottoponendo gli animali ad un'alta temperatura per parecchio tempo, cosicchè egli pensa che siano una alterazione caratteristica della grave anemia in certi casi così prodotta.

Altri autori determinarono sperimentalmente le formazione di granuli colorabili nei globuli rossi: già, sottraendo copiose quantità di sangue ripetute volte, avevano osservato Cesaris Demel (5), Poggi (6), Pierralini (11) e Loewenthal (14) l'alterata colorabilità del globulo rosso.

Ehrlich e Gabritschewski (12) avevano chiamato questa proprietà del globulo rosso ammalato: policromatofilia, osservando che con una mescolanza di eosina e bleu di metile i globuli rossi sani si coloriscono in rosa e i globuli ammalati in violetto.

A vero dire gli autori non sono concordi su questo punto: cioè se sono la medesima cosa le degenerazioni policromatofile (Gabristchewski) e gli emoglobinanämische Innenkorper (Ehrlich), il corpuscolo bleu di Poggi, ecc.; così nel mentre il Cesaris Demel dice che le granulazioni descritte da lui sono la medesima cosa col corpuscolo del Poggi, il Grawitz invece pensa che la degenerazione policromatofila non può confondersi con la colorazione spe-

ciale da Gabritschewski descritta del sangue di vari avvelenamenti od anemie.

Hayem (13) crede che nel mentre i granuli caratterizzano speciali alterazioni del globulo rosso giovane, invece gli emoglobinanämische Innenkorper (Ehrlich) non siano che l'espressione di una facile vulnerabilità dei globuli ammalati che si manifesta anche in altri modi come la scomparsa della forma biconcava, la trasformazione in microciti, ecc.

Recentemente fu ripreso lo studio delle granulazioni e da parecchi autori si è dato uno speciale significato alle granulazioni basofile.

Loewenthal (14) fece ricerche in ammalati di saturnismo e le ripetè poscia in animali che con vari procedimenti tecnici intossicava con veleni minerali (cloruro di zinco, solfato di cerio, ecc.) e in tutti ritrovava una caratteristica formazione di granulazioni basofile che egli interpretava come un prodotto di degenerazione del protoaplasma.

A queste esperienze corrispondono quelle molto simili di Moritz (15) che in topi, in conigli, cui aveva fatte iniezioni endoperitoneali di acetato di piombo trovava, indice di intossicazione saturnina, le granulazioni basofile.

Ricerche cliniche erano fatte contemporaneamente da Schmidt (16) e di Hamel (17) i quali pur essi trovano come caratteristica del sangue di individui gravemente anemici o intossicati per veleni organici (carcinomatosi) e per veleni chimici (piombo) la formazione di granulazioni basofile. Ai medesimi risultati erano giunti Sabrazes, Bouret et Leger, (21).

Contrariamente a queste osservazioni una serie di altri osservatori toglieva ogni significato a tale teperto. Già Hayem aveva notato che nel corpuscolo rosso, per qualsiasi causa più o meno anemico, si trovano delle granulazioni.

Ulmann, (18) affermò che i granuli stessi si trovano nei preparati per artificiale formazione dovuta all'alterazione che il globulo rosso subisce fuori dell'organismo animale.

Senator e Strauss (19) negavano ogni valore alla presenza dei granuli basofili che con Schür e Loewy (22) credevano fossero un reperto comune nel sangue normale.

Recentemente il Negri (20) intraprese lo studio dei gra-

nuli tingibili nei globuli rossi dei vertebrati e determinò che quelli colorabili col neutral roth sono costanti in tutti i globuli rossi nucleati, mentre non si trovano nei globuli rossi, anucleati del sangue circolante dell' individuo adulto nei quali tale particolarità di struttura si trova solamente nei globuli rossi degli organi ematopoietici (*).

Da quanto abbiamo esposto si vede che divisi sono i pareri degli autori sulla presenza delle granulazioni del globulo rosso. Ancora più divisi, come esporremo più avanti, sono i pareri sul loro significato. Questo fatto ci indusse a praticare ricerche sul sangue umano.

Queste ricerche sono state avviate allo scopo di vedere se e quando compaiono le granulazioni basofile nei globuli rossi umani e quale significato noi possiamo ad esse attribuire.

Non è duopo che stiamo a riferire dettagliatamente la tecnica usata. — Per questo ci riferiamo a quanto con larghezza fu svolto prima di noi. — In genere dei nostri ammalati abbiamo fatto un'esame metodico completo ed all'uopo determinata la ricchezza emoglobinica, fatto il conteggio dei globuli rossi e dei leucociti; abbiamo, valendoci delle più svariate colorazioni, eseguiti preparati ed oltre a ciò ci siamo valsi anche della colorazione a fresco col neutral roth.

Però fra i metodi trovammo che in prevalenza aveva dato migliori risultati il metodo seguito da Hamel che è più semplice dei precedenti ed è quindi praticamente assai utile, cioè quello di usare semplicemente la soluzione di bleu di metilene di Loèffler.

(*) Riva e Aporti riferiscono al recente Congresso che fecero una serie di ricerche sul sangue degli animali e di bambini prematuri colorando col metodo Vassale e con quello di Poggi i loro preparati e trovarono che il rosso neutro ha una azioni deleteeia su globuli rossi.

Ritengono che le granulazioni colorate siano dovute ad una azione chimica della sostanza colorante nella emoglobina. Da molti Da molti fatti cui pensano che i globuli colorabili siano i globuli giovani (**).

(**) Congresso di Medicina interna — Roma 1902.

Seguimmo precisamente la seguente tecnica:

Disteso uno strato sottile di sangue sul vetrino ed essicatolo, veniva fissato per 3-5 minuti in alcool assoluto, quindi lavato con acqua ed ancora umido coperto con qualche goccia di soluzione di Loèffler. Dopo pochi secondi il preparato assume una tinta bleu pallido, viene quindi lavato ed asciugato.

In questo modo al microscopio i nuclei dei leucociti appaiono di colore bleu intenso, mentre il loro protoplasma è bianco, i globuli rossi invece sono di colore verde pallido e fra essi facilmente si riconoscono le granulazioni basofile intensamente colorate.

Nè crediamo sia d'uopo esporre i singoli casi clinici, riuscirebbe cosa noiosa ed inutile. Esporremo invece in riassunto nostri risultati.

Il numero degli ammalati da noi esaminati fu abbastanza grande e, avendo avuto occasione anche di esaminare il sangue di individui degenti nell'ospedale per forme nelle quali in modo certo si poteva escludere qualsiasi lesione della crasi sanguigna, abbiamo anche potuto studiarne il comportamento nel sangue normale.

Come abbiamo riferito fu da altri autori creduto che tali granulazioni basofile fossero proprie del sangue normale dell'uomo adulto; vi fu anzi chi (Ulmann) pensò che si trattasse di un'alterazione artificiale dovuta alla necrobiosi del sangue estratto dal corpo.

A noi non è mai accaduto di riscontrare tale granulazioni in individui sani.

Speciale oggetto di nostre ricerche furono le gravi anemie. E noi ritrovammo che il sangue di individui con grave anemie malariche, di alcuni con cachessia cancerigna, di molti affetti da saturismo conteneva numero notevole di globuli rossi con granulazioni basofile.

Ci stupì dapprima il fatto che, mentre in parecchi individui gravemente anemici per svariate cause, non si rinvenivano, per quanto le ricerche fossero estese, globuli rossi con granulazioni basofile, in altri invece fin dall'inizio delle nostre osservazioni tali granulazioni erano in gran numero. Ciò ci fece pensare dapprima che tale alterazione fosse in rapporto colla natura del processo mor-

boso, ma parecchi confronti ci fecero vedere che questa ipotesi non era possibile.

Le granulazioni basofile invece mancarono sempre ed in modo assoluto in individui con svariate lesioni tubercolari, in clorotiche, in sifilitici, in tifosi, in arteriosclerotici; di ciascuno di questi malati abbiamo studiato il sangue in parecchi casi, invece non ci fu dato di averne che pochi di cirrosi del fegato, di nefrite, di tabe, di vizi cardiaci.

Servendoci dei comuni apparecchi per il conteggio dei globuli cercammo di determinare la percentuale colla quale si riscontravano tali globuli rossi. Fu in tal modo che, specialmente studiando il caso di gravissima ematuria, noi fummo condotti ad osservare fatti che in parte rischiarano il significato delle granulazioni.

Vedemmo anzitutto che il numero di globuli rossi con granulazioni basofile, non ha alcun rapportocolla quantità totale dei globuli rossi. Nessun rapporto esiste, come era presumibile, col numero o la varietà dei leucociti.

Il numero dei globuli rossi con granulazioni basofile varia a 2 o 3 sino a 50 ogni 1000 globuli rossi ortocromatici.

Praticando la determinazione della ricchezza emoglobinica coll'apparecchio di Fleisch, e stabilendo il valore globulare, vedemmo in un caso in cui eravi stata forte e ripetuta ematuria, con conseguente grave anemia, che vi era uno stretto rapporto tra il valore globulare ed il numero dei globuli rossi con granulazioni basofile.

Questo ammalato ad un primo esame ed ai successivi diede i risultati seguenti :

DATA	Globuli rossi	Globuli rossi con granulazioni basofile	Valore emoglobinico	Osservaz.
3 sett.	1000	0	0,36	(*)
5 "	1000	0,5	0,40	
7 "	1000	4	—	
8 "	1000	6	—	
15 "	1000	23	0,50	
20 "	1000	28	—	
26 "	1000	0	0,30	(**)
27 "	1000	0	0,30	
28 "	1000	3	—	
29 "	1000	7	0,37	
30 "	1000	15	—	
1 ott.	1000	18	0,40	
2 "	1000	22	—	
6 "	1000	46	0,45	
10 "	1000	25	0,50	

Da questa tabella risulterebbe evidente che viha la scomparsa dei granuli basofili durante il periodo delle gravi ematurie; il qual fatto contrasta notevolmente coll'ipotesi di coloro che sostengono che le granulazioni basofile significhino che il globulo rosso è in uno stadio di degenerazione per rottura del nucleo stesso.

E invece la comparsa delle granulazioni basofile coincide col periodo nel quale, come dimostra il grado emoglobinico, avvenne una rigenerazione del sangue stesso.

Ciò forse parla per la identità dei granuli basofili, da noi studiati colle granulazioni policromatofile, in quanto, come sappiamo in modo speciale per gli studi di Foà e Cesaris Demel, negli animali resi sperimentalmente anemici si aveva una ricchezza di globuli con granulazioni policromatofile, quando si ridestava l'attività ematopoietica.

Questo fatto potemmo inoltre confermare con ricerche

(*) 2 giorni dopo le prime ematurie.
(**) Nuovi attacchi di ematuria.

nei malarici e nei saturnini. Osservammo cioè che il periodo di convalescenza corrispondeva ad un periodo nel quale aumentava in modo notevole il numero dei globuli rossi a granulazioni basofile, numero che poi cadeva a poco a poco fino a divenire nullo.

Quale è il significato di tali granulazioni?

Noi non staremo a ripetere tutto quanto fu detto su questo argomento; già fu dettagliatamente riferito da altri (Grawitz-Loewenthal). È inutile ricordare l'ipotesi di Plehn il quale credeva che tali granulazioni fossero stadi del parassita malarico.

Nè maggiore importanza ha l'ipotesi che si tratti di un prodotto di degenerazione del nucleo (Israel-Askanazy) in quanto furono trovati globuli rossi con granulazioni basofile accanto al nucleo (Maximow).

Maggior fortuna ebbe l'ipotesi di Grawitz che cioè fossero un prodotto di degenerazione del protoplasma, ipotesi contrastata però dal fatto che tali granulazioni furono riscontrate nei globuli rossi degli organi ematopoietici, e in organismi nei quali erano in circolo globuli rossi giovani (esperienze di Cesaris, Loewenthal, Schmidt). Questo reperto conforta da ultimo l'ipotesi che si tratti di globuli rossi giovani, ipotesi sostenuta da Schmidt, da Cesaris e di altri. Benchè noi dobbiamo accettare questa con molto riserbo, tanto più che le ricerche di Negri sulla sostanza policromatofila, avrebbero assodato che si tratti di una speciale particolarità di struttura del protoplasma dei globuli rossi, pur tuttavia, e la coincidenza dell'aumentato grado emoglobinico e della comparsa nel sangne delle granulazioni basofile; e il fatto che furono tali granulazioni riscontrate in globuli rossi nucleati, i quali come sappiamo, nè mammiferi (forniti di globuli rossi anucleati) sono globuli rossi giovani, tutto ci autorizza a credere che anche le granulazioni basofile dei globuli rossi siano la caratteristica dei globuli rossi giovani che l'attività ematopoietica dell'organismo ha rimesso in circolo.

Quindi questo reperto di forme giovani di globuli rossi ci può far conchiudere ad una forte rigenerazione del sangue. Però non abbiamo potuto osservare se esso sia in rapporto proporzionale col grado di alterazione del sangue

stesso; forse vi sono delle variazioni individuali le quali danno differenze notevoli di reperti. — Riteniamo perciò anche noi come già aveva affermato Grawitz che le granulazioni basofile siano caratteristiche di varie forme di anemia, ma il fatto che noi ne riscontriamo la formazione nel periodo di convalescenza, ci impedisce di interpretarle anche noi come prodotti degenerativi o del protoplasma o del nucleo.

Riassumendo le nostre ricerche cliniche, le quali notevolmente collimano colle esperienze sopra esposte negli animali di esperimento, ci permettono di affermare:

1. che il sangue di individui gravemente anemici (malarie, ecc.), o con speciali intossicazioni (saturnismo) presenta un certo numero di globuli rossi contenenti granulazioni basofile.

2. il comparire di tali granulazioni coincide col periodo della convalescenza;

3. tale fatto piuttosto che essere l'indice della alterazione anatomica che la forma morbosa induce nel globulo rosso, sono l'indice invece della rinnovata attività degli organi ematopoletici.

Da ciò segue quanto interesse presenti il fatto oggetto della presente nota e che perciò deve essere studiato in tutte le forme morbose dei diversi organi.

BIBLIOGRAFIA

(1) Israel e Pappenheim. — *Virchov's Archiv*, 1896, Band 143.

(2) Giglio Tos. — *Zeitsch für Wis. Mik.*, 1898, e *Anat. Anzeiger*, 1900.

(3) Maximovv. — *Archiv für Anatomie und Phisiologie*, 1899.

(4) Foà e Cesaris Demel. — *Giornale Regia Accademia di Medicina di Torino*, 1899.

(5) Cesaris Demel. — Congresso internazionale di fisiologia, Torino 1901.

(6) Poggi. — *Il Policlinico*, 1898.

(7) Askanazy. — *Zeitschr. für Klin. Med.*, 1895.

(8) Ehrlich. — *Charitè Annalen*, 1885.

(9) Plehn. — *Deutsche Med. Woch*, 1899.

(10) Grawitz. — *Deutsche Med. Woch*, 1899, *Berliner Klin. Woch*, 1900.

(11) Pierralini. — *Rivista critica di Clinica Medica*, 1900.

(12) Ehrlich e Grabitcweski. — *Die Anämie*, 1898. *Noth*, ecc.

(13) Hayem. — *Du sang et de ses alterations anatomiques*, 1889.

(14) Loewenthal. — *Deutsche Med. Woch*, 1902.

(15) Moritz. — *Deutsche Med. Woch*, 1901.

(16) Scmidt. — *Deutsche Med. Woch*, 1902.

(17) Hamel. — *Deutsches Archiv für Klin. Medizin*. Band LXVII.

(18) Ulmann. — *Verein für imure Medizin*. Berlin, 1901.

(19) Senator e Strauss. — Citati da Pieralini.

(20) Negri. — Memorie Istituto Lombardo Scienze e Lettere, 1902.

(21) Sabrages, Bouret e Leger. — *Journal de Phis. et Path. generales*, 1900.

(22) Schùr e Loewy. — *Zeits für Klin. Medizin*, 1900.